

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## 消旋棉酚拆分的研究

### IV. 苏(-)或(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2为拆分剂

郑多楷 孟佳克 司伊康 马顺义 黄 量

(中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

**摘要** 本文介绍以光学活性苏-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2为拆分剂, 与消旋棉酚缩合, 用常压柱色谱或溶剂结晶法分离得到两个光学纯的非对映体, 然后分别水解得(+)和(-)-棉酚。

**关键词** 棉酚; (+)和(-)-棉酚; 苏(-)或(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2

前报<sup>(1-4)</sup>先后报道了通过分离S- $\alpha$ -甲基苄胺缩(±)-棉酚六乙酸酯, 及用中压柱色谱直接分离S或R- $\alpha$ -甲基苄胺缩(±)-棉酚和S或R- $\alpha$ -甲基苄胺缩(±)-棉酚非对映体, 再经水解制备(+)和(-)-棉酚的方法。直接分离胺缩(±)-棉酚虽能较大量地进行, 但因这两种胺缩棉酚的非对映体Rf值差异甚微, 分别为0.62与0.54及0.55与0.51, 分离时需大量粒度细的硅胶H(1:200)才能有效地分开。并且由于光学活性胺缩棉酚的光学稳定性差, 容易发生互变, 所以操作时必须快速细致, 否则得不到光学纯的产物。经过对15个不同类型光学活性胺与(±)-棉酚缩合所得的非对映体Rf值差异的比较, 和对其光学稳定性的考察<sup>(5)</sup>, 发现以苏(-)或(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2与(±)-棉酚的缩合物在薄层色谱上Rf值差异最大, 以乙醚为展开剂其差异>0.3, 并且光学活性稳定, 在溶液中不发生转化, 为用常压柱色谱和用结晶法进行分离提供了条件。

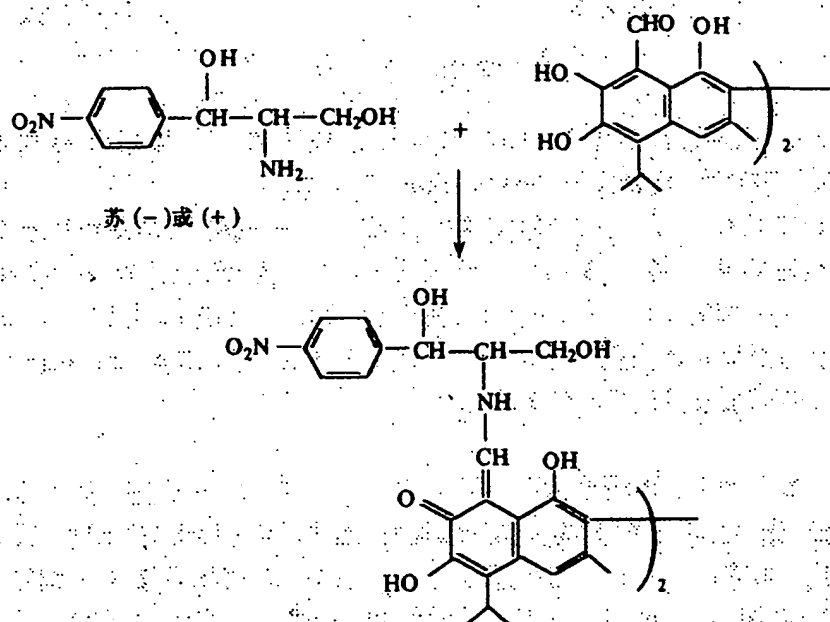
苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2与(±)-棉酚在丙酮或甲醇中缩合得苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2缩(±)-棉酚(I), 薄层色谱呈现两个黄色斑点, Rf 0.33和0(硅胶G, 乙醚),  $[\alpha]_D^{25} - 240^\circ$  (c 0.21, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)。以青岛硅胶(120~180目)柱色谱分离, 先用乙醚洗脱, 得(-)-胺缩(-)-棉酚(I<sub>a</sub>), Rf 0.33,  $[\alpha]_D^{25} - 968^\circ$  (c 0.11, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>); 再用乙醚-甲醇(95:5)洗脱得(-)-胺缩(+)-棉酚(I<sub>b</sub>), Rf 0,  $[\alpha]_D^{25} + 400^\circ$  (c 0.11, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)。在含有冰醋酸、浓盐酸的乙醚中分别水解, 得相应的(-)-棉酚  $[\alpha]_D^{25} - 354^\circ$  (c 0.12, CHCl<sub>3</sub>), mp 185~7℃; 和(+)-棉酚  $[\alpha]_D^{25} + 357^\circ$  (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>), mp 185~7℃。

在甲醇中缩合的反应液低温放置, 析出黄色固体, Rf 0.33,  $[\alpha]_D^{25} - 950^\circ$  (c 0.15, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>), 为缩合物I<sub>a</sub>。母液倒入水中得另一部分黄色固体, Rf 0.33; 0,  $[\alpha]_D^{25} + 120^\circ$  (c 0.14, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>), 为缩合物I<sub>a</sub>与I<sub>b</sub>的混合物, 经HPLC测定其比例约为25:75。

此母液内析出的混合物水解后, 在乙醚中加入冰醋酸沉出醋酸(±)-棉酚后, 从母液中可得(+)-棉酚  $[\alpha]_D^{25} + 353^\circ$  (c 0.15, CHCl<sub>3</sub>), mp 185~7℃。

同样用苏(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2与(±)-棉酚缩合, 得苏

(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2-缩(±)-棉酚(II),  $R_f$  0.33; 0 (硅胶 G, 乙醚)。在甲醇中缩合, 可结晶得 (II<sub>a</sub>),  $R_f$  0.33,  $[\alpha]_D^{16} + 950 \pm 40^\circ$  (c 0.16,  $\text{CH}_2\text{COCH}_3$ )。水解得 (+)-棉酚,  $[\alpha]_D^{16} + 370^\circ$  (c 0.143,  $\text{CHCl}_3$ )。母液处理可得 (-)-棉酚。(图 1, 2)。



I. Threo (-)-amino-(±)-gossypol

Ia Threo (-)-amino-(-)-gossypol

Ib Threo (-)-amino-(+)-gossypol

II. Threo (+)-amino-(±)-gossypol

IIa Threo (+)-amino-(+)-gossypol

IIb Threo (+)-amino-(-)-gossypol

Fig 1. Structures of condensates

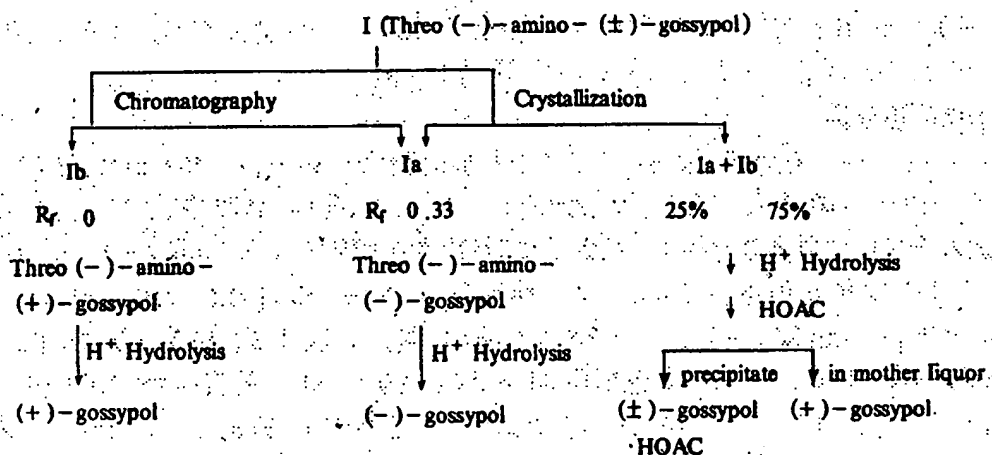


Fig 2. Diagram of experimental procedure

以上用苏(-)或(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2为拆分剂与(±)-棉酚缩合,由于所得的两个非对映体  $I_a$  与  $I_b$ ,  $II_a$  与  $II_b$  的 Rf 值相差大,并且在溶剂中不易发生消旋化反应,可以用常压柱色谱或溶剂结晶的方法进行分离,尤其是溶剂结晶法大大方便了具有抗生育活性的(-)-棉酚的制备。

## 实验部分

熔点用 Reichert 显微熔点测定器测定,温度计读数未校正。核磁共振仪为 JEOL FX-90Q 型;FX-100 型。旋光仪为 Perkin Elmer 241 型。

苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 缩(±)-棉酚(I)的制备及分离

苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 (光学纯度 98~99%) 22.5 g (0.106 mol) 与(±)-棉酚 24 g (0.046 mol) 在丙酮 50 ml 中加热回流 10~15 min, 薄层(硅胶 G, 乙醚)跟踪至棉酚完全消失, 得缩合物(I), TLC 两点, Rf 0.33; 0 (硅胶 G, 乙醚)。 $[\alpha]_D^{25} - 240 \pm 20^\circ$  (c 0.21,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ )。

### 柱色谱法分离

将上述反应中缩合物 I 的丙酮溶液以硅胶(120~180 目) 50 g 吸附, 晾干装入已装有 600 g 硅胶柱的上部, 先用乙醚洗脱, 收集前部分洗脱液, 蒸出乙醚, 抽干, 得 19 g, 收率 43.5% (以消旋棉酚计算), 为苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 缩(-)-棉酚( $I_a$ ), Rf 0.33 (硅胶 G, 乙醚),  $[\alpha]_D^{25} - 950 \pm 40^\circ$  (c 0.11,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ), ee > 99% (HPLC 测定), mp 245~7 °C。然后以乙醚-甲醇(95:5)洗脱, 洗脱液蒸除溶剂, 得 17 g, 收率 38.9% (以消旋棉酚计算), 为苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 缩(+)-棉酚( $I_b$ ), Rf 0 (硅胶 G, 乙醚),  $[\alpha]_D^{25} + 420 \pm 20^\circ$  (c 0.11,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ), mp 207~210 °C, ee > 97% (HPLC 测定)。共得光学活性缩合物 36 g, 总收率 82.4%。元素分析  $\text{C}_{48}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{14} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 计算值 % C 61.14, H 5.77, N 5.94; 实验值 % I: C 61.03, 61.09; H 5.61, 5.65; N 6.35, 6.32。  $I_a$ : C 61.18, 61.82; H 5.91, 6.15; N 5.32, 5.29。  $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1.49 (d, J=7 Hz, 12H,  $2 \times \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.94 ( $I_a$ ), 1.99 ( $I_b$ ) (各 s, 6H,  $\text{C}_{3,3} - \text{CH}_3$ ), 3.92 (br, 16H,  $2 \times \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $2 \times -\text{NCH}-$ ,  $2 \times -\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $8 \times \text{OH}$ ), 5.40 (br, 2H,  $2 \times \text{ArCH}-$ ), 8.28, 9.90 (m, 8H,  $2 \times \text{C}_6\text{H}_4-$ ), 9.67 ( $I_b$ ), 9.71 ( $I_a$ ) (各 s, 2H,  $\text{C}_{11,11} - \text{H}$ ), 13.4 (br, 2H,  $2 \times \text{NH}$ )。

### 溶剂结晶法分离

苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 9.5 g (0.048 mol) 与(±)-棉酚 10 g (0.019 mol) 在甲醇 50 ml 中加热回流 10~15 min, 薄层(硅胶 G, 乙醚)跟踪, 待反应完毕后加入少量由柱色谱分出的  $I_a$ , 放置过夜, 析出黄色固体 6.0 g, 为苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 缩(-)-棉酚( $I_a$ ), Rf 0.33,  $[\alpha]_D^{25} - 950 \pm 40^\circ$  (c 0.154,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ), mp 244~7 °C, ee > 98% (HPLC 测定), 收率 32.97% (以消旋棉酚计算)。

母液倒入 300 ml 水中, 得黄色固体 11~12 g, 为  $I_b$  和  $I_a$  的混合物, Rf 0; 0.33 (硅胶 G, 乙醚),  $[\alpha]_D^{25} + 120^\circ$  (c 0.14,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ )。经 HPLC 测定  $I_a$  为 25%,  $I_b$  为 75%。水解后可得(+)-棉酚。

苏(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 缩(+)-棉酚(IIa)的制备

苏(+)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2 1.9 g (0.0096 mol) 与(±)-棉酚 2 g (0.0039 mol) 在甲醇 20 ml 中回流 10~15 min, 得苏(+)-1-(对硝基苯基)-

1,3-二羟基丙胺-2缩(+)-棉酚(II<sub>1</sub>) 1g, Rf 0.33 (硅胶G, 乙醚),  $[\alpha]_D^{16} + 950 \pm 40^\circ$  (c 0.16, CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>), 收率 27.4% (以消旋棉酚计算)。

母液倒入水中还可得 II<sub>1</sub> 及 II<sub>2</sub> 的混合物, Rf 0.33, 0 (硅胶G, 乙醚), 以 II<sub>1</sub> 为主。

#### (-)-棉酚的制备

结晶法分离得到的 I<sub>1</sub> 6g (0.0064 mol) 与无过氧化物的乙醚 200 ml、冰醋酸 20 ml 及浓 HCl 12 ml 混悬, 加热回流搅拌 4 h, 以薄层[硅胶G, 乙醚—石油醚 (30~60℃) 35:65] 跟踪, 反应完毕后, 酸水层回收苏(-)-1-(对硝基苯基)-1,3-二羟基丙胺-2, 乙醚层先用水洗二次, 再用 NaHCO<sub>3</sub> 液及水各洗一次, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 加入石油醚 (30~60℃) 适量 (约为乙醚量之半), 通过少量硅胶过滤, 用相同比例的石油醚—乙醚洗涤, 滤液洗液合并, 回收部分溶剂, 放置得黄色针状结晶 2.2 g, 收率 66.7%, mp 185~7℃,  $[\alpha]_D^{15} - 354.2^\circ$  (c 0.12, CHCl<sub>3</sub>)。

柱色谱法分离得到的 I<sub>1</sub> 18.8 g (0.0199 mol) 用相同方法水解得 (-)-棉酚 4.5 g, 收率 43.6%, mp 185~7℃,  $[\alpha]_D^{20} - 358.1^\circ$  (c 0.12, CHCl<sub>3</sub>), 母液处理还可得另一部分 (-)-棉酚。

#### (+)-棉酚的制备

柱色谱法分离得到的 I<sub>1</sub> 17.5 g (0.0186 mol) 用上实验中相同方法水解得 (+)-棉酚 4.27 g, 收率 44.3%, mp 185~7℃,  $[\alpha]_D^{20} + 357^\circ$  (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>)。

溶剂结晶法分离得到的 II<sub>1</sub> 1.5 g (0.0016 mol) 用相同方法水解得 (+)-棉酚 0.5 g, 收率 60.7%, mp 185~7℃,  $[\alpha]_D^{16} + 370^\circ$  (c 0.143, CHCl<sub>3</sub>)。

由母液所得缩合物 (I<sub>1</sub>—I<sub>2</sub> 25:75) 制备 (+)-棉酚

I<sub>1</sub> 和 I<sub>2</sub> 的混合物 12 g 由 HPLC 测知 I<sub>1</sub> 含量约为 75%, 用制备 (-)-棉酚的相同方法水解, 乙醚层水洗二次, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 回收部分乙醚后加入冰醋酸 5 ml, 低温放置析出醋酸 (±)-棉酚 2.65 g (~0.0046 mol)。滤液中补充适量乙醚, 水洗, NaHCO<sub>3</sub> 液及水洗, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 回收乙醚, 得 (+)-棉酚 1.9 g, mp 185~7℃,  $[\alpha]_D^{15} + 353^\circ$  (c 0.115, CHCl<sub>3</sub>)。

#### 参考文献

1. 司伊康, 等. 由消旋棉酚拆分得 (-)-棉酚. 科学通报, 1983; 23: 640.
2. 司伊康, 等. 消旋棉酚拆分的研究 I. (S)-1-甲基苯乙胺缩 (±)-棉酚六乙酰酯的分离. 中国科学, 1986; 8: 850.
3. Zheng D K, et al. Resolution of racemic gossypol. J Chem Soc Chem Commun 1985, 168.
4. 郑多楷, 等. 消旋棉酚拆分的研究 II. 手性 α-甲基苯乙胺及 α-甲基苯胺缩 (±)-棉酚的分离. 药理学报 1990; 25: 417.
5. 司伊康, 等. 消旋棉酚拆分的研究 III. 缩胺棉酚的理化性质研究. 同上 1990; 25: 423.

## STUDIES ON THE RESOLUTION OF RACEMIC GOSSYPOL IV. USE OF THREO ( - ) OR ( + ) - 1 - ( p - NITROPHENYL ) - 1, 3 - DIHYDROXYPROPYLAMINE - 2 AS THE RESOLVING AGENT

DK Zheng, JK Meng, YK Si, SY Ma and L Huang

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical sciences, Beijing 100050)

**ABSTRACT** Threo ( - ) or ( + ) - 1 - ( p - nitrophenyl ) - 1, 3 - dihydroxy propylamine - 2 was found to be a useful resolving agent for racemic gossypol. The optical and chemical stability of the condensate of enantiomeric gossypols with the titled amine and the great difference in the  $R_f$  values on TLC and the solubilities in various solvents between the two diastereoisomeric condensates facilitate the separation. Therefore, the pure isomers can be easily obtained by means of chromatography or crystallization.

**Key words** Gossypol; ( + ) or ( - ) - Gossypol; Threo ( - ) or ( + ) - 1 - ( p - nitrophenyl ) - 1, 3 - dihydroxy propylamine - 2

SER  
RSI  
A.178  
U. 25  
No. 6  
1990

CODEN: YHHPAL  
ISSN 0513-4870

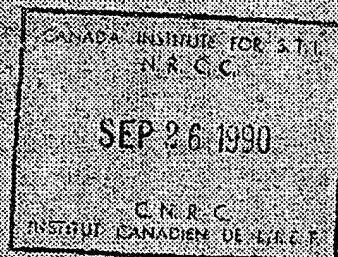
# 药 学 学 报

ACTA PHARMACEUTICA SINICA

第25卷 第6期  
Vol. 25 No. 6

6

1990



中 国 药 学 会

Chinese Pharmaceutical Association